

响应面法优化超临界CO₂萃取蔗皮 二十八烷醇工艺



HUO Yan-rong

霍艳荣, 高前欣, 吴峰华, 杨虎清*

(浙江林学院农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300)

摘 要: 以果蔗皮为试验原料,采用响应曲面分析法(RSM)优化超临界 CO₂ 萃取蔗皮二十八烷醇的工艺条件。在单因素试验的基础上,选取萃取压力、温度和时间为影响因子,应用 Box-Behnken 中心组合进行了 3 因素 3 水平的试验设计。验证了二次多项数学模型的有效性,并探讨了萃取压力、温度、时间对二十八烷醇萃取物产率的作用规律。统计分析表明压力、温度以及压力和时间的交互作用对二十八烷醇的提取量有显著影响。根据该模型进行了工艺参数的优选,试验所得二十八烷醇超临界 CO₂ 萃取的优化工艺条件为:压力 31.2 MPa,温度 44.8 °C,时间 226.17 min,该条件下提取量高达 7.585 5 mg/g。

关键词: 响应曲面分析法;超临界 CO₂ 萃取;二十八烷醇;工艺模型

中图分类号:TQ351.0

文献标识码:A

文章编号:0253-2417(2009)06-0073-05

Optimization for Supercritical CO₂ Extraction of Octacosanol from Sugar-cane Skin with Response Surface Methodology

HUO Yan-rong, GAO Qian-xin, WU Feng-hua, YANG Hu-qing

(College of Agriculture and Food Science, Zhejiang Forestry University, Lin'an 311300, China)

Abstract: Response surface methodology (RSM) was used for optimizing the extraction of octacosanol from sugar-cane skin. Based on single-factor experiments, three independent variables, namely: pressure, temperature and time were selected as affecting factors during extraction. The experiments were arranged according to Box-Behnken central composite experiment design. The model of a second order quadratic equation was established. The adequacy of the model equation for predicting the optimum response values was verified effectively. Effects of pressure, temperature and time on octacosanol yield were investigated. Statistical analysis of the experiment indicated that individual factors such as pressure, temperature, and interaction between pressure and time had very significant effects on octacosanol yield. The optimum conditions for octacosanol yield were found to be pressure 31.2 MPa, temperature 44.8 °C and extraction time 226.17 min at which the yield was 7.585 5 mg/g.

Key words: response surface methodology (RSM); supercritical CO₂ extraction; 1-octacosanol; technology model

二十八烷醇是天然存在的高级脂肪醇,主要存在于蔗蜡、糠蜡、小麦胚芽油、蜂蜡及虫蜡等天然产物中,它能够增强体力、精力和耐力,提高应激能力、反应灵敏性及机体代谢率^[1-2],改善心肌营养,降低血清胆固醇和甘油三脂含量^[3-4],已经在食品、饲料、化妆品、医药、日用化工等领域广泛应用。目前,二十八烷醇提取有溶剂法和超临界流体萃取法(SFE)。溶剂法工艺操作复杂、收率低且有环境污染等缺点,在提取过程中消耗大量溶剂。用超临界 CO₂ 萃取,一般经过两级分离后,便可获得纯度高的二十八烷醇产品,且无溶剂残留,工艺较简单,收率比溶剂法高^[5]。另外,超临界 CO₂ 萃取还能减少提取产物的热分解效应^[6]。响应曲面(RSM)是采用多元二次回归方法作为函数估计的工具,研究因子与响应值之间、因子与因子之间的相互关系,是统计设计试验技术的合成,采用合理的试验设计,能以最经济的方

收稿日期:2008-10-06

基金项目:浙江省教育厅科研项目(20060666)

作者简介:霍艳荣(1974-),女,内蒙古通辽人,讲师,硕士,主要从事农产品加工和精深利用研究

* 通讯作者:杨虎清,副教授,主要从事农产品贮藏与加工研究;E-mail: yanghq@zjfc.edu.cn.

式,用很少的时间对实验进行全面的研 究, RSM 广泛应用于优化提取工艺等领域^[7-9]。本试验以浙江省主要经济作物果蔗加工的废弃物——蔗皮为试验材料,选择二十八烷醇为目标产物,以提取率为考察指标,采用 SFE 技术和 RSM 试验设计方法,对影响超临界 CO₂ 萃取蔗皮二十八烷醇的 3 个主要工艺参数:压力、温度和时间进行了优化,拟找出各参数对二十八烷醇提取的协同作用规律,并建立相关的工艺模型,为工业化生产技术和装备开发提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 设备和仪器

华安 HA221-50-06 型超临界流体萃取装置,江苏南通华安超临界流体萃取有限公司。气相色谱仪 (Agilent 6890 series GC System)、精密电子天平(感量 0.01)等。

1.2 材料和试剂

果蔗 (*Saccharum officinarum* L.) 皮,由临安水果公司提供,日晒除水,剪成 2 cm × 1 cm 大小,冷藏备用。二十八烷醇标准品 (Sigma, 纯度为 99.0%, GC 用)、CO₂ 钢瓶气体 (食品级)、氯仿 (优级纯)。

1.3 响应曲面分析 (RSM) 试验设计

影响超临界 CO₂ 萃取二十八烷醇的参数包括温度、压力、夹带剂比例、CO₂ 流速以及萃取时间。本实验中,16% 的乙醇添加量和 0.3 L/min CO₂ 流速是最适合的基本条件。因而,采用 Box-Behnken 设计方法,以压力 (X_1)、温度 (X_2)、时间 (X_3) 3 个因子为自变量,设计 17 次试验 (中心点 5 个重复) 拟合二次多元回归方程^[10],方程模型如下:

$$Y = B_0 + \sum_{i=1}^n B_i X_i + \sum_{i=1, j=1}^n B_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

当 $n=3$, 方程(1)可转换为:

$$Y = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_3 X_3 + B_{12} X_1 X_2 + B_{13} X_1 X_3 + B_{23} X_2 X_3 + B_{11} X_1^2 + B_{22} X_2^2 + B_{33} X_3^2 \quad (2)$$

式中: B_0 —常数项; B_1 、 B_2 、 B_3 —分别为线性系数; B_{12} 、 B_{13} 、 B_{23} —交互项系数; B_{11} 、 B_{22} 、 B_{33} —二次项系数。

根据现有试验条件和以往单因素试验结果^[11], 3 个变量其取值范围分别为 12~36 MPa、40~60 °C 和 120~240 min。按方程 ($X_i' = (x_i - x_0) / \Delta x$, $x = 1, 2, 3$) 对自变量进行编码 (X_i' 为自变量的编码值; x_i 是自变量的真实值; x_0 为试验中心点自变量的真实值; Δx 为自变量的变化步长), 以二十八烷醇萃取量 (Y) 为响应值, 试验自变量因素编码及水平见表 1。

1.4 色谱测定条件

参考文献[12]的方法,略有改进。色谱柱: HP-5 (30 m × 0.53 mm × 1.0 μm); 检测器: FID; 气化室温度 269 °C; 检测器温度 320 °C; 柱温为程序升温, 初始温度为 155 °C, 维持 2 min 后, 10 °C/min 升温至 262 °C, 保持 12 min; 载气: 高纯氮气, 流速为 42.0 mL/min; 氢气流速 40.0 mL/min; 助燃气流速 410 mL/min; 进样量 1 μL。

1.5 标准曲线的绘制

准确称取 0.100 0 g 标准样品, 置于 25 mL 容量瓶中, 用氯仿 (分析纯) 溶解并定容至刻度。此溶液质量浓度为 4 g/L。分别取此溶液 0、1、2、3、4 和 5 mL 置于 10 mL 容量瓶用氯仿定容至刻度。此系列质量浓度为 0、0.4、0.8、1.2、1.6 和 2.0 g/L。分别进样 1 μL, 以峰面积为纵坐标, 标准品质量浓度为横坐标。用 Δ 峰高 (mV) 对标准质量浓度作出标准线性回归方程: $y = 36721x - 1222.2$, $R^2 = 0.973$, 表明二十八烷醇质量浓度在 0.4~2.0 g/L 与峰面积具有很好的线性关系。

2 结果与分析

2.1 二十八烷醇提取工艺模型建立及显著性检验

利用 Design Expert 7.0 软件建立的试验设计及结果如表 1。对表 1 中试验数据进行回归分析, 得二次多元回归方程为:

$$Y = 6.588 + 1.275X_1 + 0.1675X_2 + 1.7X_3 - 0.0375X_1X_2 + 0.3675X_1X_3 + 0.0125X_2X_3 - 1.30025X_1^2 + 0.14975X_2^2 - 1.24525X_3^2$$

表1 RSM 试验设计与结果

Table 1 Experimental design and results of response surface methodology (RSM)

试验序号 test No.	压力/MPa pressure	温度/°C temp.	时间/min time	响应值/(mg·g ⁻¹) response value (yield of octacosanol)
1	24	60	240	7.47
2	24	50	180	6.72
3	36	60	180	6.87
4	24	50	180	6.76
5	24	40	240	6.97
6	12	60	180	4.20
7	12	50	120	1.56
8	36	50	240	7.26
9	24	60	120	3.99
10	36	50	120	3.18
11	24	50	180	6.30
12	36	40	180	6.75
13	24	50	180	6.62
14	12	50	240	4.17
15	24	40	120	3.54
16	12	40	180	3.93
17	24	50	180	6.54

对该模型进行方差分析,结果见表2, $F = 156.73 > (F_{0.01}(9,4) = 14.66)$, $p < 0.0001$, 表明模型极显著。模型的 $R = 0.9887$, 说明该模型能够很好地预测二十八烷醇的提取量^[13]。萃取物产率 $F = 1.21 < (F_{0.05}(9,3) = 8.81)$, $p = 0.4128 > 0.05$, 表明失拟不显著, 模型能够预测不同变量对二十八烷醇萃取物产率的影响^[14]。根据表2、表3 回归系数显著性检验, 一次项压力 X_1 ($p < 0.0001$)、时间 X_3 ($p < 0.0001$) 极显著, 而温度 X_2 ($p < 0.05$) 显著; 二次项 X_1^2 ($p < 0.0001$)、 X_3^2 ($p < 0.0001$) 极显著, 而 X_2^2 ($p > 0.05$) 不显著。交互项 X_1X_2 ($p = 0.7058$) 和 X_2X_3 ($p = 0.8994$) 不显著, 但 X_1X_3 显著。可见压力和提取时间对二十八烷醇的提取量有显著影响作用。

表2 回归模型方差分析

Table 2 Analysis of variance for regression model

方差来源 sources	平方和 sum of square	自由度 df	均方 mean square	F 值 F value
模型 model	51.30	9	5.70	156.73 **
残差 residual	0.25	7	0.036	
失拟 lack of fit	0.12	3	0.040	1.21
误差 pure error	0.11	4	0.033	
总和 total	51.56	16		
判定系数 coefficient of determination $R^2 = 99.51\%$		修正判定系数 modified coefficient of determination $Adj R^2 = 98.87\%$		

2.2 响应面与交互作用分析

应用多元回归模型对影响二十八烷醇提取量的参数进行优化分析, 所得回归模型拟合良好。参数的响应曲面见图1(a~c)。图1(a)表明温度不变, 二十八烷醇提取量随着压力的增加而增加; 而当压力达到一定值, 提取量变化平缓后继续呈现下降趋势。当压力在一较低区域变化时, 较高的温度有利于提高产量。图1(b)中, 当时间不变时, 二十八烷醇提取量随着压力的增加而上升。压力不变, 二十八烷醇提取量随着时间的延长而增加, 但超过一定值后时间的增加对提取不利。图1(c)可以看出, 当时间不变时高温能够提高二十八烷醇产量。图2表明多元回归模型对试验结果的预测效果良好 ($R^2 = 0.97$)。

表3 回归方程系数显著性检验

Table 3 Test of significance for regression coefficient

系数 coefficient	标准差 SD	t	p
常量 constant(B_0)	6.59	77.25	<0.0001
X_1 (B_1)	1.28	18.91	<0.0001
X_2 (B_2)	0.17	2.48	0.0419
X_3 (B_3)	1.70	25.21	<0.0001
X_1^2 (B_{11})	-1.30	-13.99	<0.0001
X_2^2 (B_{22})	0.15	1.61	0.1512
X_3^2 (B_{33})	-1.25	-13.40	<0.0001
$X_1 X_2$ (B_{12})	-0.038	-0.39	0.7058
$X_1 X_3$ (B_{13})	0.37	3.85	0.0063
$X_2 X_3$ (B_{23})	0.013	0.13	0.8994

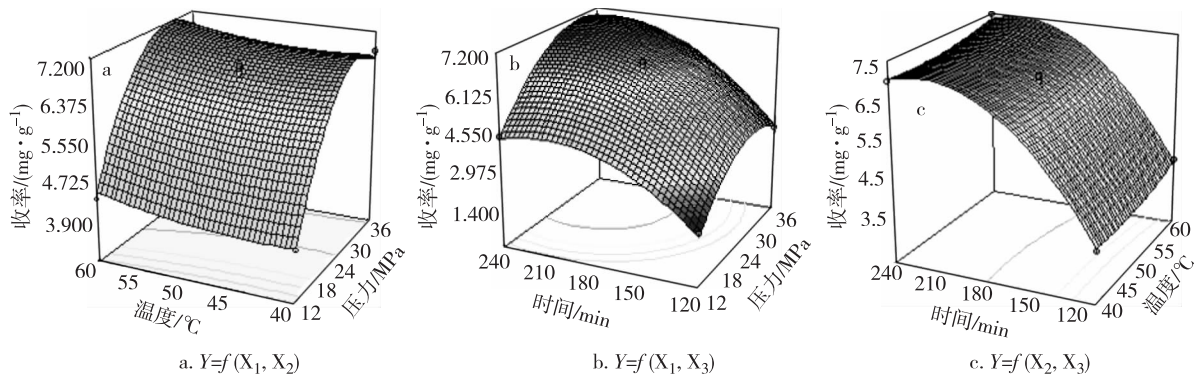


图1 响应面图和等高线图

Fig. 1 Responsive surface and contours

2.3 最佳工艺验证

再对三维非线性回归模型(1)进行求一阶偏导,并令其为零,得出提取率较高的条件: $X_1 = 0.60$, $X_2 = 0.52$, $X_3 = 0.77$,转化为实际参数,即压力 31.2 MPa,温度 44.8 °C,时间 226.17 min,在此条件下二十八烷醇的提取量达到 7.585 5 mg/g,试验值为 7.363 2,两者相对偏差为 2.9% < 小于 5%。

3 结论

3.1 用响应曲面分析法(RSM)建立了超临界 CO₂ 萃取蔗皮二十八烷醇的工艺模型。回归分析结果表明,压力和提取时间对二十八烷醇的提取量有显著影响作用。压力和提取时间的交互作用对提取率的影响也显著。

3.2 二十八烷醇提取响应方程的回归分析和验证实验表明此方法合理可行。响应曲面法获得的 CO₂ 萃取蔗皮二十八烷醇的优化工艺参数:压力 31.2 MPa,温度 44.8 °C,时间 226.17 min,在此条件下二十八烷醇的最高提取量为 7.585 5 mg/g。

参考文献:

- [1] RAPPORT L J. Nutraceuticals (3): Octacosanol[J]. Pharmaceutical Journal, 2000, 265(7): 170-171.
- [2] SHIMURA S, HASEGAWA T, TAKANO S, et al. Studies on the effect of octacosanol on motor endurance in mice[J]. Nutritional Reproduction International, 1987, 36(5): 1029-1038.
- [3] ARRUAZABALA M L, CARBAJAL D, MAS R, et al. Cholesterol-lowering effects of policosanol in rabbits[J]. Biological Research, 1994, 27

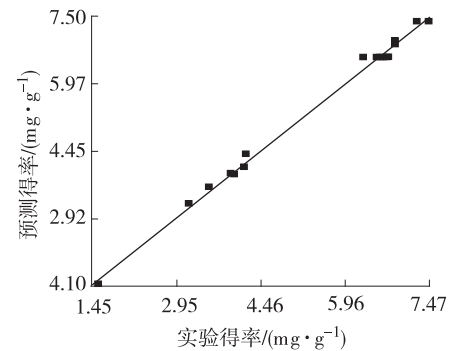


图2 实验值和预测值

Fig. 2 Observed values vs. predicted values for octacosanol yield

- (3/4):205-208.
- [4] KATO S, KARINO K, HASEGAWA J, et al. Octacosanol affects lipid metabolism in rats fed on a high fat diet[J]. *British Journal of Nutrition*, 1995, 73(3):433-442.
- [5] HAWTHORNE S. Analytical-scale fluid extraction[J]. *Analytical Chemistry*, 1990, 62:533A-642A.
- [6] MACÍAS-SÁNCHEZ M D, MANTELL C, RODRÍGUEZ M, et al. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Nannochloropsis gaditana*[J]. *Journal of Food Engineering*, 2005, 66(1):245-251.
- [7] MASON R L, GUNST R F, HESS J L. *Statistical Design and Analysis of Experiments-with Application to Engineering and Science*[M]. New York: John Wiley and Sons, 1989.
- [8] MONTGOMERY D C, RUNGER G C, HUBELE N F. *Engineering Statistics*[M]//HOBOKEN N J. New York: John Wiley and Sons Inc, 2001.
- [9] RAO J K, CHUL-HO K, SANG-KI R. Statistical optimization of medium for the production of recombinant hirudin from *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology[J]. *Process Biochemistry*, 2000, 35(2):639-647.
- [10] 陈魁. 试验设计与分析[M]. 北京: 清华大学出版社, 2005.
- [11] 杨虎清, 常银子, 吴峰华. 超临界 CO₂ 萃取蔗皮中二十八烷醇工艺研究[J]. *食品科技*, 2008(5):168-169.
- [12] 潘成巧, 龚文发, 蔚茂. 气相色谱法测定保健食品中二十八烷醇的方法[J]. *公共卫生与预防医学*, 2005, 16(2):51.
- [13] PUJARI V, CHANDRA T S. Statistical optimization of medium components for enhanced riboflavin production by a UV-mutant of *Eremothecium ashbyii*[J]. *Process Biochemistry*, 2000, 36(1):31-37.
- [14] RASTOGI N K, RASHMI K R. Optimisation of enzymatic liquefaction of mango pulp by response surface methodology[J]. *European Food Research and Technology*, 1999, 209(1):57-62.

计量标准器具 竭诚欢迎使用检定

松香色度标准块

本产品具有国内行业中质量检验的权威性
长期、周到的售后服务让客户无后顾之忧

松香色度标准装置(又名《松香颜色分级标准》玻璃比色块),是符合我国松香光学特性具有完整体系的松香颜色分级标准。1982年荣获林业部科技成果二等奖。1987年至今,被《脂松香》、《松香试验方法》国家标准所采用,并多次经国家质量监督检验检疫局复查考核合格。

用有色光学玻璃制成的最高标准一套称为“中国松香色度标准装置”,计六个级别,每级一块,编号为S20,保存在中国林业科学研究院林产化学工业研究所。本标准块为最高标准的复制品,分为壹等品和贰等品两种。壹等品适用于商检、质检、内外贸、工厂中心化验室和教学、科研等单位;贰等品适用于工厂车间化验室。根据检定规程,壹等品与最高标准的色差 $\Delta E_{ab}^* \leq 1.5$,贰等品与最高标准的色差 $\Delta E_{ab}^* \leq 2.0$ 。林产化学工业研究所为本标准块全国唯一的制造单位和归口检定单位。制造计量器具许可证证书编号为(苏)制00000095号。产品出厂两年内免检,以后按检定规程要求每两年采用双光束分光光度计复检一次。林产化学工业研究所将竭诚为您服务,欢迎来电来函订购,欢迎将标准块寄我所检定。

联系地址:210042 南京市锁金五村16号

联系人:郭长泰

中国林科院林产化学工业研究所

电 话:(025)85482450,85482533

传 真:(025)85413445